

版本号: DP130419

TIANGel Maxi Purification Kit

大量琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP210

产品内容

产品组成	DP210-02 (50 preps)
平衡液BL (Buffer BL)	30 ml
溶胶液PN (Buffer PN)	2 × 25 ml
漂洗液PW (Buffer PW)	15 ml
洗脱缓冲液EB (Buffer EB)	15 ml
吸附柱CA3 (Spin Columns CA3)	50个
收集管 (2 ml) (Collection Tubes 2 ml)	50个

储存条件

该试剂盒置于室温 (15-25°C) 干燥条件下, 可保存12个月, 更长时间的保存可置于2-8°C。2-8°C 保存条件下, 若溶液产生沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间, 必要时可在37°C 水浴中预热10 min, 以溶解沉淀。

产品简介

本试剂盒采用可以高效、专一结合DNA的硅基质材料和独特的缓冲液系统，从TAE或TBE琼脂糖凝胶上回收DNA片段，同时除去蛋白质、其它有机化合物、无机盐离子及寡核苷酸引物等杂质。可回收100 bp-30 kb大小的片段，回收率可达80%以上，每个离心吸附柱每次可吸附的DNA量为20 µg。

使用本试剂盒回收的DNA可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、测序、文库筛选、连接和转化等实验。

产品特点

快速：整个操作过程快速方便，几十分钟即可完成回收工作。

多样：可以回收单链、双链DNA片段以及环状质粒DNA。

高效：独特的离心柱和精心配制的缓冲液保证最大量回收到高纯度的目的DNA。

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 平衡液BL的加入能够改善吸附柱的吸附能力并提高吸附柱的均一性和稳定性，消除高温/潮湿或其他不良环境因素对吸附柱造成的影响。使用前请先检查平衡液BL是否出现浑浊，如有混浊现象，可在37°C水浴中加热数分钟，即可恢复澄清。
 2. 电泳时最好使用新的电泳缓冲液，以免影响电泳和回收效果。
 3. 如下一步实验要求较高，则应尽量使用TAE电泳缓冲液。
 4. 切胶时，紫外照射时间应尽量短，以免对DNA造成损伤。
 5. 如果回收率较低，可在胶充分溶解后检测pH值，如pH值大于7.5，可向含有DNA的胶溶液中加入10-30 µl 3 M醋酸钠（pH5.2）将pH值调到5-7之间。
 6. 回收<100 bp及>10 kb的DNA片段时，应加大溶胶液的体积，延长吸附和洗脱的时间。
 7. 回收率与初始DNA量和洗脱体积有关，初始量越少、洗脱体积越少，回收率越低。
-

操作步骤

使用前请先在漂洗液PW中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。所有离心步骤均为使用台式离心机在室温下离心。

1. 柱平衡步骤：向吸附柱CA3中（吸附柱放入收集管中）加入500 μ l平衡液BL，12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$)离心1 min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
2. 将单一的目的DNA条带从琼脂糖凝胶中切下（尽量切除多余部分）放入干净的离心管中，称取重量。
3. 向胶块中加入等倍体积溶液PN（如果凝胶重为0.1 g，其体积可视为100 μ l，则加入100 μ l PN溶液），50°C水浴放置，其间不断温和地上下翻转离心管，以确保胶块充分溶解。如果还有未溶的胶块，可继续放置几分钟或再补加一些溶胶液，直至胶块完全溶解（若胶块的体积过大，可事先将胶块切成碎块）。

注意：对于回收<300 bp的小片段可在加入PN完全溶胶后再加入1/2胶块体积的异丙醇以提高回收率；胶块完全溶解后最好将溶液温度降至室温再上柱，因为吸附柱在室温时结合DNA的能力较强。

4. 将上一步所得溶液加入到一个吸附柱CA3中（吸附柱放入收集管中），室温放置2 min，12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$)离心30-60 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CA3放入收集管中。

注意：吸附柱容积为800 μ l，若样品体积大于800 μ l可分批加入。

5. 向吸附柱CA3中加入600 μ l漂洗液PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$)离心30-60 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CA3放入收集管中。

注意：如果回收的DNA是用于盐敏感的实验，例如平末端连接实验或直接测序，建议PW加入后静置2-5 min再离心。

6. 重复操作步骤5。
-

-
7. 将吸附柱CA3放回收集管中，12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$)离心2 min，尽量除去漂洗液。将吸附柱CA3置于室温放置数分钟，彻底地晾干，以防止残留的漂洗液影响下一步的实验。

注意：漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。

8. 将吸附柱CA3放入一个干净离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加适量洗脱缓冲液EB，室温放置2 min。12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$)离心2 min收集DNA溶液。

注意：洗脱体积不应小于50 μl ，体积过少影响回收效率。洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。若后续做测序，需使用ddH₂O做洗脱液，并保证其pH值在7.0-8.5范围内，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在-20℃，以防DNA降解。DNA也可以用缓冲液(10 mM Tris-Cl, pH8.0)洗脱。为了提高DNA的回收量，可将离心得到的溶液重新加回离心吸附柱中，再次离心。

DNA浓度及纯度检测

回收得到的DNA片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。

DNA应在OD₂₆₀处有显著吸收峰，OD₂₆₀值为1相当于大约50 $\mu\text{g/ml}$ 双链DNA、40 $\mu\text{g/ml}$ 单链DNA。

OD₂₆₀/OD₂₈₀比值应为1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用ddH₂O，比值会偏低，因为pH值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。
